

# 花榈木幼苗接种不同根瘤菌对中度干旱胁迫的生理响应

段如雁<sup>1,2</sup>, 韦小丽<sup>1\*</sup>, 安常蓉<sup>1</sup>, 张 兰<sup>1</sup>

(1. 贵州大学林学院, 贵州 贵阳 550025; 2. 贵州省生物研究所, 贵州 贵阳 550009)

**摘要:** [目的] 探讨花榈木幼苗接种不同根瘤菌对中度干旱胁迫的生理响应, 筛选促进幼苗抗旱的优良菌株。 [方法] 以接种不同菌株根瘤菌的花榈木幼苗和不接种的花榈木对照幼苗为研究材料, 采用盆栽的方法进行持续干旱的胁迫试验。测定接种不同根瘤菌后的花榈木幼苗在中度干旱胁迫下的相对电导率、丙二醛含量、可溶性糖含量、游离脯氨酸含量、SOD 活性、叶片光合速率、蒸腾速率、叶绿素荧光等相关生理指标, 并对各处理幼苗进行隶属函数抗旱性综合评价。 [结果] 表明: 接种根瘤菌能显著降低中度干旱胁迫对花榈木幼苗叶片质膜相对透性的影响, 与对照比较降幅为 29.4%~73.9%。与对照相比, 接菌处理的脯氨酸和可溶性糖平均含量以及 SOD 活性平均值分别提高了 199.8%、135.3% 和 200.2%, 而膜脂过氧化产物丙二醛含量降低 26.2%~78.0%, 光合速率最高比对照提高 11.6 倍。受到中度干旱胁迫时, 接种根瘤菌的花榈木幼苗 PS II 反应中心内的光能转化效率和 PS II 的潜在活性提高, 对干旱胁迫的调节适应能力较强。 [结论] 不同根瘤菌菌株对幼苗的抗旱性影响差异显著 ( $P < 0.05$ ); 抗旱性综合评价结果显示, 接种 10 号、11 号、9 号、16 号、7 号、13 号菌株的花榈木幼苗平均隶属函数值为 0.62~0.81, 为高抗旱处理, 可初步作为优良的抗旱菌株。

**关键词:** 花榈木幼苗; 根瘤菌; 干旱胁迫; 生理; 叶绿素荧光

中图分类号: Q945.78

文献标识码: A

文章编号: 1001-1498(2018)04-0061-09

## Physiological Response of *Ormosia henryi* Seedlings with Inoculating Different Rhizobium Strains to Moderate Drought Stress

DUAN Ru-yan<sup>1,2</sup>, WEI Xiao-li<sup>1</sup>, AN Chang-rong<sup>1</sup>, ZHANG Lan<sup>1</sup>

(1. College of Forestry, Guizhou University, Guiyang 550025, Guizhou, China;

2. Guizhou Institute of Biology, Guiyang 550009, Guizhou, China)

**Abstract:** [Objective] The study aims at exploring the physiological responses of *Ormosia henryi* seedlings with inoculation of different rhizobium strains under moderate drought stress and screening the excellent strains for drought resistance. [Method] Using *O. henryi* seedlings inoculated with different rhizobium strains as test material, the continuous drought stress experiment were designed under pot culture. After 23-day's drought stress, the physiological indexes such as relative conductivity, MDA, soluble sugar, free proline content, SOD activity, photosynthetic rate, transpiration rate and chlorophyll fluorescence parameters were determined, and the drought resistance of each treatment seedlings was evaluated by the membership function comprehensive method. [Result] The results showed that the relative membrane of *O. henryi* seedlings inoculated with rhizobium strains significantly decreased by 29.4% - 73.9% under moderate drought stress. Compared with the CK (not inoculated), the average proline con-

收稿日期: 2017-06-08

基金项目: 国家自然科学基金“花榈木根瘤菌多样性及幼苗形成调控因素研究”(31460193); 贵州省高层次创新人才培养计划(2006-1)

作者简介: 段如雁(1985—), 女, 博士研究生, 从事森林培育方面的研究。E-mail: ruyan115@163.com。

\* 通讯作者: 韦小丽(1969—), 女, 博士生导师, 教授, 主要从事森林培育方面的研究。E-mail: gdwxl-69@126.com。

tent, soluble sugar content and SOD activity increased by 199.8%, 135.3%, and 200.2%, the MDA decreased by 26.2%–78.0%, and the highest photosynthetic rate was 11.6 times higher than that of CK treatment. The light energy conversion efficiency and the potential activity of PS II of *O. henryi* seedlings increased after inoculated with rhizobium strains, the ability of adjusting and adapting to drought stress strengthen. [ **Conclusion** ] The effect of different strains to drought resistance of *O. henryi* seedlings shows significant difference ( $P < 0.05$ ). The comprehensive evaluation results of drought resistance show that the mean value of membership function of *O. henryi* seedlings inoculated with 6 kind of strains were from 0.62 to 0.81, indicating these seedlings are highly drought resistance treatments, and these strains could be regarded as excellent drought resistant strains.

**Keywords:** *Ormosia henryi* seedling; rhizobium; drought stress; physiology; chlorophyll fluorescence

花榈木(*Ormosia henryi* Prain)是蝶形花科红豆树属,国家二级保护植物<sup>[1]</sup>,是制作高档家具的珍贵用材树种,其树形优美,近年来被用作优良的园林绿化树种,发展潜力巨大<sup>[2]</sup>,孟宪帅等研究认为,花榈木幼苗生长对水分需求高,耐旱性较差<sup>[3]</sup>。随着气候变化,湿润地区也经常呈现季节性干旱,需要选择抗旱苗木造林,因此,培育抗旱性较强的花榈木苗木十分必要。有研究表明,豆科树种与根瘤菌共生固氮除了能够提高植物的固氮量外,也能提高植物的抗逆性<sup>[4-9]</sup>。因此,人工接种优良根瘤菌,是提高苗木抗旱性的重要途径之一。本研究拟通过对花榈木幼苗接种不同根瘤菌株,采用盆栽法人工模拟自然持续干旱,以探讨花榈木幼苗接种不同根瘤菌株后

对中度干旱胁迫的生理生态响应,以期筛选出促进花榈木幼苗抗旱的优良菌株,为发掘优良的根瘤菌种质资源,提高花榈木苗木抗旱性提供理论依据和技术指导。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

花榈木种子采自贵州省石阡县同一株母树,千粒质量为(390.6 ± 0.4) g,净度为94.6%。供试菌株是从贵州、浙江、安徽、福建、江西等省采集的花榈木根瘤中分离,经加有刚果红的YMA平板划线,28℃恒温培养,并通过16S rDNA序列分析及回接验证的23株纯化菌株(见表1)。

表1 通过16S rDNA序列分析及回接验证的23株菌株  
Table 1 Strains of verified by 16S rDNA sequence analysis

编号 Number	采集地 Collecting location	近源菌 Closely related	相似性 Similarity/%	登录号 Accession number
1	贵州关岭	<i>Rhizobium rosettiformans</i> W3	93	KR921482.1
2	贵州荔波	<i>Rhizobium</i> sp. SCAUS07	99	KF836032.1
3	贵州荔波	<i>Rhizobium</i> sp. S41	100	CP016433.1
4	贵州平塘	<i>Rhizobium</i> sp. YE2-4	98	KT992333.1
5	贵州罗甸	<i>R. nepotum</i> MLS-6-6	99	KT997460.1
6	贵州凯里	<i>R. tropici</i> CAF336	95	EU399925.1
7	贵州石阡	<i>Rhizobium</i> sp. L120T	99	KM894194.1
8	贵州石阡	<i>R. pusense</i> BJ	99	KF297587.1
9	贵州石阡	<i>Rhizobium</i> sp. JCM 28644	99	LC133675.1
10	贵州麻江	<i>R. nepotum</i> Rrad-006	99	KX260959.1
11	贵州麻江	<i>R. lusitanum</i> P3-13	99	HQ830495.1
12	贵州孟关	<i>R. tropici</i> SY61	99	KP687381.1
13	贵州黎平	<i>Rhizobium</i> sp. RITF 1462	98	JQ697681.1
14	贵州黎平	<i>Rhizobium</i> sp. CCBAU 83718	99	EU145992.1
15	贵州天柱	<i>R. lusitanum</i> , R-51027	99	LN995682.1
16	浙江临安	<i>R. lusitanum</i> P3-13	98	HQ830495.1
17	浙江临安	<i>Rhizobium</i> sp. JCM 28634	99	LC133665.1
18	浙江永康	<i>Rhizobium</i> sp. L120T	99	KM894194.1
19	浙江永康	<i>Rhizobium</i> sp. LMB-1	99	KM891589.1
20	福建建瓯	<i>R. multihospitium</i> CCBAU 83375	99	EF035065.2
21	福建南平	<i>R. lusitanum</i> ITM L4111	99	KC568140.1
22	江西庐山	<i>R. tropici</i> B28	99	JX010975.1
23	江西庐山	<i>R. pusense</i> ZJY-286	79	KP282790.1

## 1.2 研究方法

1.2.1 无菌苗培育 选取饱满的花榈木种子,先用0.1%升汞溶液浸泡10 min进行表面消毒,然后浸泡于80℃的热水中,并让其自然冷却。种子吸胀后,置于无菌发芽盒中,在25℃培养箱内催芽。待芽苗长到1 cm,移植到60 cm×30 cm的塑料大盆中,每个大盆移植10株芽苗,共移植芽苗720株,置于塑料大棚中培养。大盆使用前用0.5%高锰酸钾溶液进行消毒。移植基质为经过120℃高温高压灭菌锅灭菌0.5 h的蛭石。

1.2.2 花榈木接种根瘤菌 将供试菌株在YMA斜面上活化后,接入YMA液体培养基中,28℃下摇床培养3 d至对数期,分光光度计检测菌液 $OD_{600}$ 值大于0.5时用于接种。待花榈木芽苗长出真叶后接种,接种菌株23个,采用根部浇灌方式接种,每种菌株接种3个重复,每重复接种10株花榈木幼苗。每株幼苗接种10 mL菌液。以不接种根瘤菌的处理作为对照(CK),对照苗浇灌等量的YMA液体培养基。接种后每隔15 d浇1次无氮营养液,不施加其他肥料,隔30 d追接1次根瘤菌菌液,直到苗木根部长出根瘤。

1.2.3 干旱胁迫处理 花榈木接种苗培养3个月后(2016年7月1日)开始进行干旱胁迫试验。胁迫前用清水浇苗木至基质水分饱和,之后任其自然干旱,23 d后,待对照苗叶片出现萎蔫时停止胁迫,此时测得基质相对湿度为40.2%,根据GB/T20481-2006干旱等级划分为中度干旱等级。分别测定接种苗及对照苗的生理生化指标,每个处理重复取样3次。

## 1.3 生理生化指标的测定

以相对电导率表示质膜相对透性,参照郝建军等<sup>[10]</sup>方法,丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸法测定,可溶性糖含量采用蒽酮比色法测定,脯氨酸含

量采用茚三酮法测定,超氧化物歧化酶(SOD)活性采用NBT法测定。

于晴天上午9:00—11:00,对每个处理分别选取3片功能叶片,用LI-6400便携式光合仪测定光合速率、蒸腾速率等指标。

叶片经充分暗适应后,使用Junior-PAM叶绿素荧光仪测定叶绿素荧光参数,主要包括最大光化学量子产量( $F_v/F_m$ )、PS II潜在活性( $F_v/F_0$ )、实际光合量子产量 $[Y(II)]$ 、光化学淬灭(QP)和非光化学淬灭(NPQ)。

## 1.4 数据统计与分析

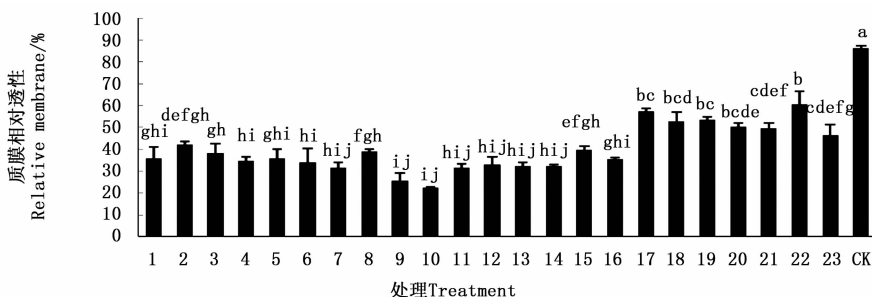
试验数据使用Microsoft Excel 2010和SPSS 22.0统计分析软件进行分析处理。采用Duncan法进行多重比较。利用隶属函数法对各参试菌株处理苗木进行综合评价<sup>[11]</sup>,筛选抗旱的菌株。

$$\text{水分利用效率} = \text{净光合速率} / \text{蒸腾速率}$$

## 2 结果与分析

### 2.1 干旱胁迫对接种不同菌株花榈木幼苗质膜相对透性的影响

在中度干旱胁迫下,接种不同根瘤菌菌株的花榈木幼苗质膜相对透性差异显著( $P < 0.05$ ) (图1),均显著低于CK,其中,接种10号菌株的花榈木质膜相对透性最低,比CK低73.9%,其次为9号菌株,比CK低70.3%,多重比较显示2个处理间差异不显著( $P > 0.05$ )。除CK外,接种22号菌株花榈木质膜相对透性最高,且与其他处理差异显著( $P < 0.05$ ),仅比CK低29.4%。说明接种根瘤菌能够显著降低干旱胁迫对花榈木幼苗叶片质膜相对透性的影响,但接种不同菌株的幼苗的抗胁迫伤害能力不同,接种10号、9号菌株更有利于保护叶片质膜相对透性,提高花榈木幼苗的抗旱能力。



注:柱上不同小写字母表示处理间差异显著( $P < 0.05$ ),下同。

Note: The different lowercase letters mean significant difference ( $P < 0.05$ ), the same below.

图1 接种不同根瘤菌花榈木幼苗在中度干旱胁迫下的质膜相对透性

Fig. 1 The relative membrane permeability of *Ormosia henryi* seedlings inoculated with different rhizobium strains under moderate drought stress

## 2.2 干旱胁迫接种不同菌株花榈木幼苗生化指标的影响

2.2.1 对可溶性糖和脯氨酸含量的影响 由图2、3可以看出:接种根瘤菌的花榈木幼苗在受到中度干旱胁迫时,叶片内可溶性糖含量和脯氨酸含量均高于CK,接菌处理平均可溶性糖含量比CK高135.3%,平均脯氨酸含量比CK高199.8%,方差分析表明,各处理间的可溶性糖和脯氨酸含量均差异显著( $P < 0.05$ )。接种9号菌株的花榈木可溶性糖

含量最高,接种11号菌株花榈木次之,多重比较显示2个处理间差异不显著( $P > 0.05$ ),都在0.8%以上,分别是对照的4.0、3.9倍。接种22号菌株的可溶性糖含量最低,仅为CK的1.3倍。接种9号菌株的花榈木脯氨酸含量最高,接种10号菌株次之,分别是CK的5.9、5.2倍。接种9号、11号菌株对幼苗可溶性糖的积累效果较好,接种9号、10号菌株有利于幼苗脯氨酸的积累。

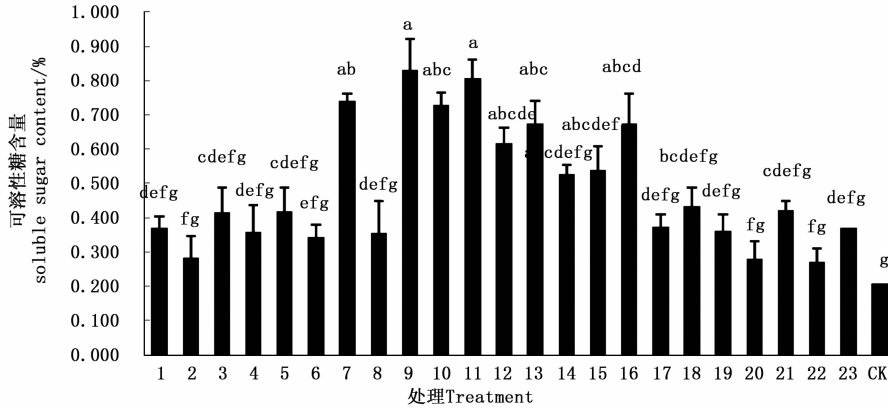


图2 接种不同根瘤菌花榈木幼苗在中度干旱胁迫下可溶性糖含量

Fig. 2 The soluble sugar content of *Ormosia henryi* seedlings inoculated with different rhizobium strains under moderate drought stress

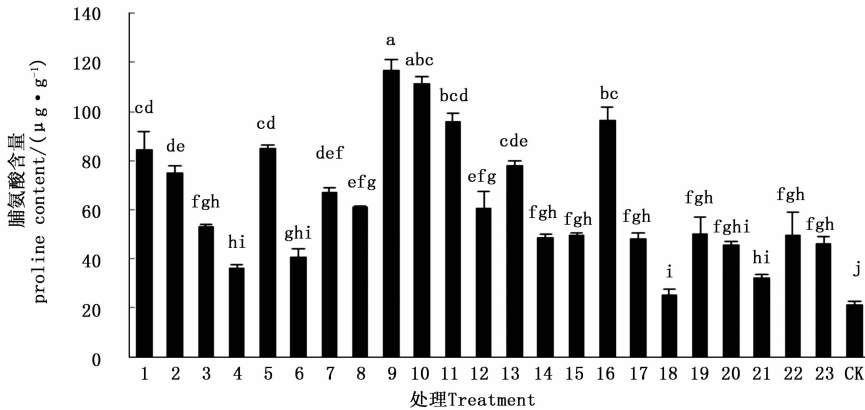


图3 接种不同根瘤菌花榈木幼苗在中度干旱胁迫下脯氨酸含量

Fig. 3 The proline content of *Ormosia henryi* seedlings inoculated with different rhizobium strains under moderate drought stress

2.2.2 对丙二醛含量的影响 中度干旱胁迫下不同接种处理花榈木幼苗丙二醛(MDA)含量差异显著( $P < 0.05$ )(图4),且显著低于CK。CK的MDA含量比所有接种处理的平均值高127.1%。MDA含量较低的前3个菌株号为5号、3号、9号,分别比CK降低78.0%、75.8%、74.3%。表明5号、3号、9号菌株能更有效抑制幼苗的膜脂过氧化,降低其产物对幼苗的毒害。

2.2.3 对SOD活性的影响 所有处理中SOD活性

CK最低(图5),与其他接种处理差异显著( $P < 0.05$ )。接种不菌株的幼苗,在受到中度干旱胁迫时,SOD活性不同,接种5号菌株的花榈木SOD活性最高,比CK提高340.6%,接种16号菌株次之,与5号菌株差异不显著( $P > 0.05$ ),比CK提高337.1%,说明接种根瘤菌的幼苗清除体内超氧离子基团以及自由基的能力提高,从而使植株耐受干旱的能力增强,接种5号、16号菌株最有利于抵御干旱对幼苗的伤害。

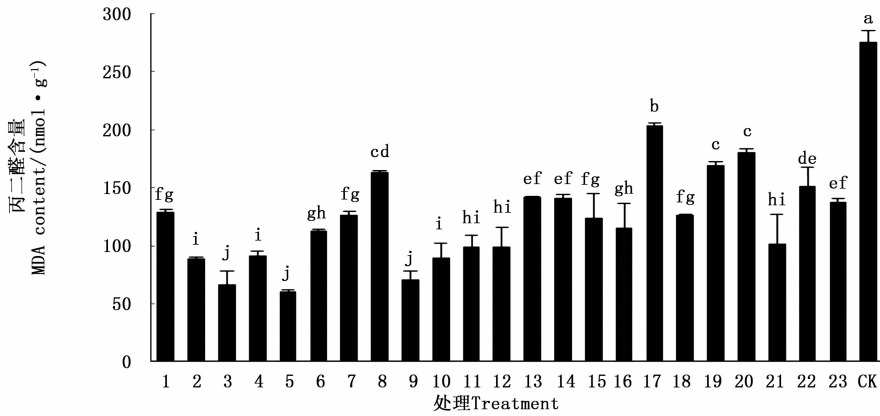


图4 接种不同根瘤菌花榈木幼苗在中度干旱胁迫下丙二醛含量

Fig.4 The MDA content of *Ormosia henryi* seedlings inoculated with different rhizobium strains under moderate drought stress

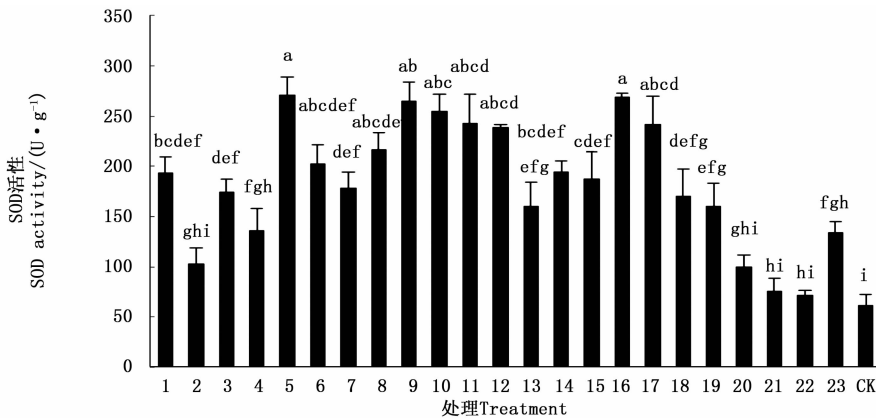


图5 接种不同根瘤菌花榈木幼苗在中度干旱胁迫下SOD活性

Fig.5 The SOD activity of *Ormosia henryi* seedlings inoculated with different rhizobium strains under moderate drought stress

## 2.3 干旱胁迫对接种不同菌株花榈木幼苗光合生理的影响

2.3.1 对光合参数的影响 在中度干旱胁迫下, CK净光合速率最低(表2),而接种根瘤菌的花榈木净光合速率、蒸腾速率、水分利用效率均显著高于CK,接种不同的根瘤菌株间差异显著( $P < 0.05$ )。接种9号菌株幼苗的净光合速率最高,是CK的11.6倍,10号菌株次之,是CK的9.8倍,表明9号、10号菌株更有利于花榈木保持较高抗旱能力。

表2显示:接种处理的花榈木幼苗蒸腾速率均高于CK,说明接种处理后,花榈木的蒸腾作用对干旱胁迫的敏感性降低。接种14号菌株的花榈木幼苗水分利用效率最高,为CK的4.2倍,4号和3号菌株次之,分别为CK的4.0倍和3.5倍,22号菌株最低,为CK的1.2倍。14号、4号、3号、13号和9号菌株有利于花榈木幼苗水分利用效率的提高。

2.3.2 对叶绿素荧光参数的影响 由表3可知:受到中度干旱胁迫时,CK的Fv/Fm、Fv/F0、Y(II)、QP

值显著( $P < 0.05$ )低于其他接种幼苗,接种4号菌株幼苗的Fv/Fm、Fv/F0、Y(II)值最大,分别是对照的1.8、3.0、1.6倍。接种10号菌株幼苗的QP值最大,接种11号菌株幼苗的次之,二者间差异不显著( $P > 0.05$ ),但与其它处理差异显著( $P < 0.05$ )。NPQ则表现为CK的最大,接种7号菌株幼苗的最小,仅为CK的5.81%。说明接种根瘤菌能促进花榈木在受到中度干旱胁迫时,提高实际原初光能捕获效率,并使PS II反应中心保持相对较高的开放程度,从而提高光合能力。

## 2.4 不同菌株幼苗抗旱性综合评价

对不同菌株幼苗的抗旱性综合评价结果(表4)显示:接种10号、11号、9号、16号、7号、13号菌株花榈木抗旱隶属平均值为0.62~0.81,幼苗抗旱能力强,表明这些根瘤菌菌株有利于提高花榈木幼苗抗旱性。抗旱性差的为接种17~23号菌株处理。

表2 接种不同根瘤菌花榈木幼苗在中度干旱胁迫下光合速率、蒸腾速率和水分利用效率

Table 2 The photosynthetic rate, transpiration rate and water use efficiency of *Ormosia henryi* seedlings inoculated with different rhizobium strains under moderate drought stress

处理 Treatment	净光合速率 Photosynthetic rate $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	蒸腾速率 Transpiration rate $\text{mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	水分利用效率 Water use efficiency $\mu\text{mol} \cdot \text{mmol}^{-1}$	处理 Treatment	净光合速率 Photosynthetic rate $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	蒸腾速率 Transpiration rate $\text{mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	水分利用效率 Water use efficiency $\mu\text{mol} \cdot \text{mmol}^{-1}$
1	1.58 ± 0.13gh	0.42 ± 0.01h	3.76 ± 0.21ghi	13	2.35 ± 0.15c	0.37 ± 0.01j	6.35 ± 0.28b
2	1.87 ± 0.12ef	0.46 ± 0.01g	4.06 ± 0.21fgh	14	1.43 ± 0.21hi	0.20 ± 0.01o	7.15 ± 0.15a
3	1.42 ± 0.19hi	0.21 ± 0.00n	6.66 ± 0.30b	15	1.72 ± 0.10fg	0.36 ± 0.01k	4.78 ± 0.19cde
4	1.07 ± 0.24j	0.17 ± 0.01p	6.29 ± 0.68a	16	2.39 ± 0.12c	0.56 ± 0.01c	4.28 ± 0.15efg
5	2.13 ± 0.06d	0.40 ± 0.00i	5.32 ± 0.16c	17	1.29 ± 0.05i	0.25 ± 0.01m	5.16 ± 0.30c
6	2.33 ± 0.22c	0.60 ± 0.02b	3.88 ± 0.45hij	18	1.94 ± 0.14e	0.49 ± 0.01f	3.96 ± 0.35gh
7	1.43 ± 0.11hi	0.47 ± 0.00g	3.04 ± 0.26jk	19	0.62 ± 0.08lm	0.19 ± 0.01o	3.26 ± 0.36ij
8	1.62 ± 0.06g	0.41 ± 0.00i	3.95 ± 0.14gh	20	0.83 ± 0.06k	0.16 ± 0.01p	5.19 ± 0.13c
9	3.14 ± 0.31a	0.51 ± 0.01e	6.16 ± 0.10b	21	0.50 ± 0.07m	0.17 ± 0.01p	2.94 ± 0.14jk
10	2.65 ± 0.24b	0.63 ± 0.01a	4.21 ± 0.35efg	22	0.56 ± 0.10m	0.24 ± 0.01m	2.33 ± 0.22lm
11	2.42 ± 0.10c	0.53 ± 0.00d	4.57 ± 0.17def	23	0.75 ± 0.07kl	0.29 ± 0.00l	2.59 ± 0.23kl
12	2.14 ± 0.05d	0.42 ± 0.00h	5.10 ± 0.08cd	CK	0.27 ± 0.12n	0.14 ± 0.01q	1.92 ± 0.56m

注:表中数据为“均值 ± 标准差”,同列数据后标不同字母表示差异达显著水平( $P < 0.05$ )。下表同。

Note: Data in the table represent average value ± standard error. Different letters indicate significant difference ( $P < 0.05$ ). The same below.

表3 接种不同根瘤菌花榈木幼苗在中度干旱胁迫下叶绿素荧光参数

Table 3 The chlorophyll fluorescence parameters of *Ormosia henryi* seedlings inoculated with different rhizobium strains under moderate drought stress

处理 Treatment	最大光化学量子产量 Fv/Fm	PS II 潜在活性 Fv/F0	实际光合量子产量 Y (II)	光化学淬灭 QP	非光化学淬灭 NPQ
1	0.427 ± 0.017d	0.745 ± 0.028g	0.333 ± 0.000d	0.724 ± 0.031h	0.078 ± 0.002n
2	0.450 ± 0.018d	0.818 ± 0.015e	0.297 ± 0.000g	0.846 ± 0.034de	0.103 ± 0.004j
3	0.466 ± 0.031c	0.872 ± 0.015d	0.327 ± 0.005de	0.720 ± 0.027h	0.103 ± 0.002j
4	0.569 ± 0.005a	1.321 ± 0.050a	0.368 ± 0.003a	0.955 ± 0.015b	0.113 ± 0.000g
5	0.434 ± 0.005d	0.767 ± 0.023f	0.355 ± 0.008b	0.714 ± 0.010h	0.060 ± 0.000o
6	0.435 ± 0.020d	0.770 ± 0.061f	0.300 ± 0.002g	0.652 ± 0.022i	0.107 ± 0.002i
7	0.449 ± 0.028d	0.815 ± 0.031e	0.316 ± 0.006f	0.818 ± 0.030ef	0.016 ± 0.000s
8	0.435 ± 0.025d	0.771 ± 0.033f	0.321 ± 0.007e	0.917 ± 0.037c	0.038 ± 0.000q
9	0.435 ± 0.011d	0.771 ± 0.014f	0.345 ± 0.005c	0.909 ± 0.058c	0.055 ± 0.000q
10	0.500 ± 0.016b	1.000 ± 0.100b	0.355 ± 0.005b	1.063 ± 0.150a	0.057 ± 0.000p
11	0.493 ± 0.030b	0.972 ± 0.066c	0.344 ± 0.006c	1.000 ± 0.086a	0.098 ± 0.000k
12	0.421 ± 0.020e	0.727 ± 0.022h	0.302 ± 0.008g	0.762 ± 0.029g	0.075 ± 0.001n
13	0.450 ± 0.024d	0.818 ± 0.030e	0.309 ± 0.004f	0.810 ± 0.028f	0.036 ± 0.000r
14	0.403 ± 0.018gh	0.675 ± 0.015l	0.321 ± 0.004ef	0.789 ± 0.042fg	0.088 ± 0.001m
15	0.417 ± 0.016ef	0.715 ± 0.022i	0.321 ± 0.004e	0.810 ± 0.052f	0.091 ± 0.000l
16	0.419 ± 0.022e	0.722 ± 0.025h	0.339 ± 0.009c	0.864 ± 0.066d	0.056 ± 0.000p
17	0.415 ± 0.011efg	0.710 ± 0.020i	0.309 ± 0.006f	0.708 ± 0.016h	0.132 ± 0.000g
18	0.406 ± 0.016fgh	0.684 ± 0.018k	0.275 ± 0.002h	0.704 ± 0.025h	0.107 ± 0.002i
19	0.386 ± 0.009i	0.629 ± 0.012o	0.260 ± 0.001j	0.667 ± 0.015i	0.140 ± 0.000f
20	0.391 ± 0.010i	0.642 ± 0.041n	0.259 ± 0.000j	0.619 ± 0.032j	0.176 ± 0.003e
21	0.409 ± 0.018efgh	0.692 ± 0.031j	0.236 ± 0.003k	0.650 ± 0.028ij	0.200 ± 0.004d
22	0.397 ± 0.021hi	0.541 ± 0.020p	0.268 ± 0.002i	0.654 ± 0.058i	0.240 ± 0.005b
23	0.351 ± 0.017j	0.658 ± 0.054m	0.258 ± 0.002j	0.571 ± 0.040k	0.210 ± 0.005c
CK	0.309 ± 0.006k	0.447 ± 0.015q	0.235 ± 0.000k	0.538 ± 0.032l	0.275 ± 0.000a

表4 23种参试菌株处理抗旱综合选育

Table 4 Comprehensive drought resistance screening of 23 test strains

处理 Treatment	相对电 导率 Relative conductivity	可溶性 糖含量 Soluble sugar content	SOD 总 活性 SOD activity	脯氨酸 含量 Proline content	净光合速率 Photosyn- thetic rate	水分利用 效率 Water use efficiency	最大光化 学量子 产量 Fv/ Fm	PS II 潜 在活性 FV/F0	实际光合 量子产量 Y(II)	光化学 淬灭 QP	非光化 学淬灭 NPQ	平均值 average	排序 Order
10	1.00	0.84	0.92	0.87	0.83	0.30	0.74	0.63	0.90	1.00	0.84	0.81	1
11	0.86	0.96	0.87	0.72	0.75	0.78	0.71	0.60	0.82	0.88	0.68	0.79	2
9	0.95	1.00	0.97	1.00	1.00	0.35	0.49	0.37	0.83	0.71	0.85	0.77	3
16	0.69	0.75	0.99	0.73	0.74	0.95	0.42	0.31	0.78	0.62	0.85	0.71	4
7	0.86	0.86	0.56	0.45	0.40	0.73	0.54	0.42	0.61	0.53	1.00	0.63	5
13	0.85	0.75	0.47	0.55	0.73	0.55	0.54	0.43	0.56	0.52	0.92	0.62	6
4	0.81	0.24	0.36	0.15	0.28	0.28	1.00	1.00	1.00	0.79	0.63	0.59	7
5	0.79	0.34	1.00	0.62	0.65	0.20	0.48	0.37	0.90	0.34	0.83	0.59	8
1	0.73	0.26	0.63	0.61	0.46	1.00	0.45	0.34	0.74	0.35	0.76	0.58	9
8	0.74	0.24	0.74	0.39	0.47	0.44	0.49	0.37	0.65	0.72	0.92	0.56	10
12	0.84	0.66	0.85	0.38	0.65	0.32	0.43	0.32	0.50	0.43	0.77	0.56	11
15	0.73	0.53	0.60	0.27	0.51	0.75	0.42	0.31	0.65	0.52	0.71	0.54	12
3	0.75	0.33	0.54	0.31	0.40	0.53	0.60	0.49	0.69	0.35	0.66	0.51	13
14	0.85	0.52	0.64	0.27	0.40	0.38	0.36	0.26	0.65	0.48	0.72	0.50	14
2	0.80	0.12	0.20	0.52	0.56	0.47	0.54	0.43	0.47	0.59	0.66	0.49	15
6	0.82	0.22	0.67	0.19	0.72	0.39	0.49	0.37	0.49	0.22	0.65	0.47	16
17	0.45	0.27	0.86	0.26	0.36	0.56	0.41	0.30	0.56	0.32	0.55	0.45	17
18	0.52	0.36	0.52	0.04	0.58	0.33	0.37	0.27	0.30	0.32	0.65	0.39	18
19	0.52	0.25	0.48	0.28	0.12	0.22	0.30	0.21	0.19	0.25	0.52	0.30	19
20	0.56	0.12	0.19	0.24	0.20	0.55	0.32	0.22	0.18	0.15	0.38	0.28	20
23	0.62	0.26	0.35	0.24	0.17	0.20	0.16	0.24	0.17	0.06	0.25	0.25	21
21	0.57	0.35	0.07	0.11	0.08	0.07	0.39	0.28	0.01	0.21	0.29	0.22	22
22	0.40	0.10	0.05	0.28	0.10	0.11	0.34	0.11	0.25	0.22	0.14	0.19	23
CK	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	24

### 3 讨论

与对照相比,在受到中度干旱胁迫时,接种根瘤菌后的花榈木幼苗膜系统受损降低,膜脂过氧化作用明显受到抑制,体内脯氨酸及可溶性糖等渗透调节物质含量显著提高,从而阻止细胞膜解离,增强细胞保水能力,稳定细胞结构,防止细胞脱水,这与前人的研究结论一致<sup>[12-15]</sup>。接种根瘤菌的花榈木幼苗的SOD活性显著高于对照。SOD是重要的活性氧清除酶,其主要功能是清除生物体内超氧离子基团,防御活性氧或其它过氧化物自由基对细胞膜的伤害,从而使花榈木幼苗耐受干旱的能力增加。这与张攀等对根瘤菌共生紫花苜蓿抗旱生理变化研究结果类似<sup>[16]</sup>。

花榈木幼苗接种根瘤菌后在中度干旱胁迫下其光合速率、水分利用效率等抗旱生产力显著提高,PS II反应中心内的光能转化效率和PS II的潜在活性提高,对干旱胁迫的调节适应能力较强,具有较高的光合电子传递活性,光合器官能更有效地捕获并充

分利用光能,且能量转化率也较高。蒸腾速率为重要的避旱能力指标,一般认为,在水分胁迫条件下,树木蒸腾速率迅速下降,有利于减少水分丧失,维持体内水分平衡<sup>[17]</sup>。本研究中,对照的蒸腾速率最低,接种根瘤菌的幼苗蒸腾速率高于对照。这可能是因为干旱胁迫下,对照幼苗保水能力弱,失水严重,蒸腾作用受阻,而接种根瘤菌的处理保水能力较强,在受到相同胁迫处理时仍保持一定的蒸腾拉力,从而提供植株较高部分水分的获取以及体内营养物质的运输,维持植物的正常代谢。

叶绿素荧光与光合作用中各个反应过程紧密相关,任何逆境对光合作用各过程产生的影响都可通过体内叶绿素荧光诱导动力学变化反映出来。因此,叶绿素荧光参数可作为逆境条件下植物抗逆反应的指标之一<sup>[18-19]</sup>。本研究结果说明中度干旱胁迫下各处理的花榈木PS II活性中心均有受损,未接种根瘤菌的花榈木的PS II原初光能转换效率、潜在活性降低程度大于接种根瘤菌的花榈木。在同等胁迫条件下,接种根瘤菌能降低花榈木幼苗的PS II系

统受到的伤害,使其保持相对较高的光合电子传递活性和能量转化率,光合器官能更加有效地捕获并充分利用光能。接种 4 号菌株效果最明显,10 号、11 号次之。中度水分胁迫也造成 QP 下降及 NPQ 的上升,电子传递受阻并且以热的形式耗散掉的光能部分增加,这与 Mouradi 等<sup>[20]</sup>、徐梦莎等<sup>[21]</sup>、刘永安等<sup>[22]</sup> 研究结果类似。

从试验结果看,接种不同的菌株对花榈木各指标的作用及贡献并不一致,渗透调节物质和防御系统物质的积累能力和程度也不一样,很可能是各指标之间具有相互补偿的作用。因此,不能单一用某一指标评价抗旱的能力,本研究选用隶属函数法进行综合评价。根据李禄军等对抗旱级别的划分:抗旱隶属值大于 0.6 小于 1 为高度抗旱<sup>[23]</sup>,本研究结果表明,接种 10 号、11 号、9 号、16 号、7 号、13 号菌株后花榈木幼苗抗旱隶属值为 0.62 ~ 0.81,为高度抗旱菌株。同时从这些菌株的采集地可以看出,除 16 号采集自浙江外,其它几个菌株均为采集自贵州的菌株。有研究表明,根瘤菌株的耐旱性能与其分离地相关,是菌株适应生态环境的结果<sup>[24]</sup>。在高温、干旱等不利植物生长的环境条件下分离到的根瘤菌菌株本身就具有较强的抗逆性,将分离自该环境下的根瘤菌接种到苗木上,可提高苗木的抗逆性<sup>[9]</sup>。本研究所筛选的抗旱菌株是否与采集地本身的干旱环境状况相关,有待深入研究。因苗木材料的限制,本工作主要研究了接种不同菌种花榈木幼苗对中度干旱胁迫的生理响应,未对其在轻度和重度干旱胁迫性下的生理响应进行探讨,为本研究的不足之处。同时本试验的研究对象为 1 年生花榈木幼苗,且因为育苗基质并非土壤,根瘤菌与花榈木苗木的共生环境比较单一,因此,所筛选的抗旱菌株对于多年生花榈木苗木和在其它土壤中是否有相同的抗旱效应,均有待进一步验证。

## 4 结 论

接种根瘤菌能显著提高花榈木幼苗的抗旱性,花榈木接种不同的菌株对中度干旱胁迫的生理响应差异显著( $P < 0.05$ )。接种根瘤菌能够降低干旱胁迫对花榈木叶片质膜相对透性的影响,提高植株体内脯氨酸及可溶性糖等可渗透调节物质含量以及提高活性氧和自由基清除酶 SOD 的活性,从而减小对细胞造成的脱水伤害,并能有效减少膜脂过氧化产物 MDA 的积累,提高花榈木幼苗的耐旱能力。接种

后花榈木幼苗光合速率、水分利用效率等抗旱生产力显著提高,PS II 反应中心内的光能转化效率和 PS II 的潜在活性提高,对干旱胁迫的调节适应能力增强。综合评价结果显示,10 号、11 号、9 号、16 号、7 号、13 号菌株有利于提高花榈木幼苗的抗旱性,可初步作为优良的抗旱菌株。

## 参 考 文 献:

- [1] 于永福. 中国野生植物保护工作的里程碑——《国家重点保护野生植物名录(第一批)》出台[J]. 植物杂志, 1999(5): 3-11.
- [2] 姚 军, 杨 波. 优良园林绿化树种——花榈木[J]. 中国城市林业, 2007, 5(1): 65.
- [3] 孟宪伟, 韦小丽. 不同水分环境对花榈木幼苗生理生化的影响[J]. 山地农业生物学报, 2011, 30(3): 215-220.
- [4] Hussain M B, Zahir Z A, Asghar H N, et al. Scrutinizing Rhizobia to Rescue Maize Growth under Reduced Water Conditions[J]. Soil Science Society of America Journal, 2014, 78(2): 538-545.
- [5] Khadraji A, Ghoulam C. Effect of drought on growth, physiological and biochemical processes of chickpea-rhizobia symbiosis[J]. Legume Research, 2017, 40(1): 94-99.
- [6] Yanni Y, Zidan M, Dazzo F, et al. Enhanced symbiotic performance and productivity of drought stressed common bean after inoculation with tolerant native rhizobia in extensive fields [J]. Agriculture Ecosystems & Environment, 2016, 232: 119-128.
- [7] Bano A, Fatima M. Salt tolerance in *Zea mays* (L). following inoculation with *Rhizobium* and *Pseudomonas* [J]. Biology and Fertility of Soils, 2009, 45(4): 405-413.
- [8] Rasaei B, Ghobadi M E, Ghobadi M, et al. Reducing effects of drought stress by application of Humic acid, Mycorrhiza and *Rhizobium* on Chickpea [J]. International Journal of Agriculture and Crop Sciences, 2013, 5(16): 1775-1778.
- [9] 沙桦欣, 伍建榕, 马焕成, 等. 接种根瘤菌对台湾相思生长和抗旱能力的影响[J]. 云南农业大学学报, 2013, 28(4): 517-522.
- [10] 郝建军, 康宗利, 于 洋. 植物生理学实验技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006.
- [11] 马芳蕾, 陈 莹, 聂晶晶, 等. 4 种芒属观赏草对于干旱胁迫的生理响应[J]. 森林与环境学报, 2016, 36(2): 180-187.
- [12] 刁俊明, 曾宪录, 陈桂珠. 干旱胁迫对桐花树生长和生理指标的影响[J]. 林业科学研究, 2014, 27(3): 423-428.
- [13] 何彩云, 李梦颖, 罗红梅, 等. 不同沙棘品种抗旱性的比较[J]. 林业科学研究, 2015, 28(5): 634-639.
- [14] 黄承玲, 陈 训, 高贵龙. 3 种高山杜鹃对持续干旱的生理响应及抗旱性评价[J]. 林业科学, 2011, 47(6): 48-55.
- [15] Kumar V, Shiram V, Kishor P B K, et al. Enhanced proline accumulation and salt stress tolerance of transgenic indica, rice by over-expressing P5CSF129A, gene [J]. Plant Biotechnology Reports, 2010, 4(1): 37-48.
- [16] 张 攀, 杨培志, 王卫栋, 等. 干旱胁迫下根瘤菌共生紫花苜



- 藿抗旱生理变化研究[J]. 草地学报, 2013(5): 938-944.
- [17] 杨敏生, 裴保华, 朱之梯. 白杨双交杂种无性系抗旱性鉴定指标分析[J]. 林业科学, 2002, 38(6): 36-42.
- [18] 陈建明, 俞晓平, 程家安. 叶绿素荧光动力学及其在植物抗逆生理研究中的应用[J]. 浙江农业学报, 2006, 18(1): 51-55.
- [19] Maxwell K, Johnson G N. Chlorophyll fluorescence-a practical guide[J]. Journal of Experimental Botany, 2000, 51: 659-668.
- [20] Mouradi M, Bouizgaren A, Farissi M, et al. Seed osmopriming improves plant growth, nodulation, chlorophyll fluorescence and nutrient uptake in alfalfa (*Medicago sativa* L.) -rhizobia symbiosis under drought stress[J]. Scientia Horticulturae, 2016, 213:232-242.
- [21] 徐梦莎, 李芳东, 朱高浦, 等. 水分胁迫对仁用杏苗期光合生理和生物量积累的影响[J]. 热带作物学报, 2016, 37(4): 700-708.
- [22] 刘永安, 骆晓铭, 魏建国, 等. 不同水分条件下麻疯树幼苗的光合生理适应性研究[J]. 林业科学研究, 2010, 23(1): 108-113.
- [23] 李禄军, 蒋志荣, 李正平, 等. 3树种抗旱性的综合评价及其抗旱指标的选取[J]. 水土保持研究, 2006, 13(6): 253-254, 2.
- [24] 裴晓峰, 关大伟, 李俊, 等. 耐旱大豆根瘤菌的筛选及其接种效应[J]. 大豆科学, 2012, 31(3): 420-424.

(责任编辑:崔 贝)